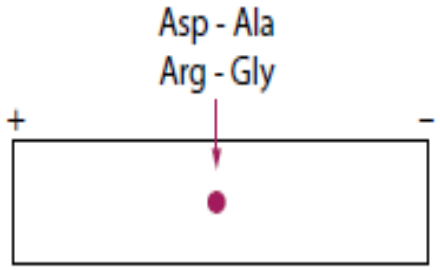
TD 6 : Les protéines

Exercice 1 :

Vous disposez d'une solution contenant un mélange de quatre acides aminés : Asp (D), Ala(A), Arg (R), Gly (G). Vous réalisez quatre électrophorèses de ce mélange dans quatre tampons avec des pH différents : 1, 3, 7 et 11. Dans ces électrophorèses, la distance de migration ne dépend pas de la taille des molécules. Indiquer où va se trouver chacun des acides aminés à la fin de chacune des électrophorèses.



Exercice 2:

L'étude de la structure d'un peptide a donné les résultats suivants :

1) Composition en acides aminés : Ala, Arg, Cys, Lys, Ser.

2) L'hydrolyse par la trypsine donne un dipeptide et un tripeptide.

3) L'hydrolyse acide ménagée donne un tripeptide composé de : Ala, Arg, et Cys.

4) L'action du dinitrofluorobenzène (DNFB) sur le tripepetide précédent donne un dinitrophényl-Alanine (DNP-Ala).

Parmi les réponses suivantes, choisir la ou les séquence(s) compatible(s) avec les données ci-dessus:

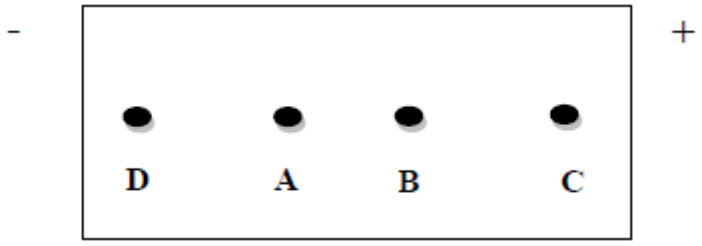
a-Lys-Ala-Arg-Cys-Ser b-Ala-Arg-Cys-Ser-Lys c- Ala-Arg-Cys-Lys-Ser

d- Ser-Ala-Arg-Cys-Lys e- Ser-Lys-Ala-Arg-Cys f- Ala-Arg-Ser-Cys-Lys

Exercice 3:

On donne un mélange de quatre protéines A, B, C, D.

L'électrophorèse réalisée sur ce mélange à pH =7 a donné le résultat suivant:



Le calcul du pHi de ces quatre protéines a donné les valeurs suivantes:

pHi = 5.1, pHi = 6.2, pHi = 8, pHi =8.5.

1) Indiquer le pHi correspondant à chaque protéine.

2) Ce mélange est déposé au sommet d'une colonne de résine échangeuse d'anions éluée par un tampon de pH 7. Parmi les quatre protéines données, quelles sont celles qui s'accrochent la plus fortement à la résine.

3) Comment doit-on faire varier le pH afin de faciliter la libération de ces protéines ? Justifier votre réponse.

4) Indiquer l'ordre d'élution des protéines. Justifier votre réponse.

Exercice 4 : On veut déterminer les poids moléculaires d'une protéine.

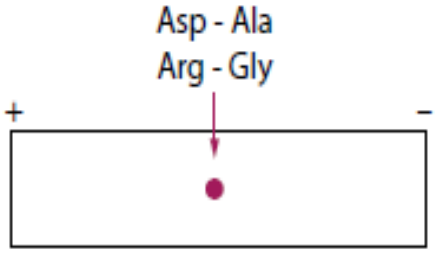
1) Sachant que la protéine contient 0.2 % de His et que le PM de His est de 155 Da. Calculer le PM minimum de la protéine.

2) L'ultracentrifugation de la protéine a donné un PM de 390 000 Da. Indiquer le nombre de molécules d'His rentrant dans la composition de ce peptide.

Tutorial 6: Proteins

Exercise 1: You have a solution containing a mixture of four amino acids: Asp (D), Ala (A), Arg (R), and Gly (G). You perform four electrophoresis runs on this mixture, using buffers at different pH levels: 1, 3, 7, and 11. In these electrophoresis experiments, the migration distance does not depend on the size of the molecules.

Indicate the position of each amino acid at the end of each electrophoresis run.



Exercise 2: The study of the structure of a peptide yielded the following results:

1) Amino acid composition: Ala, Arg, Cys, Lys, Ser.

2) Hydrolysis by trypsin yields a dipeptide and a tripeptide.

3) Controlled acid hydrolysis yields a tripeptide composed of: Ala, Arg, and Cys.

4) The action of dinitrofluorobenzene (DNFB) on the aforementioned tripeptide yields dinitrophenyl-alanine (DNP-Ala).

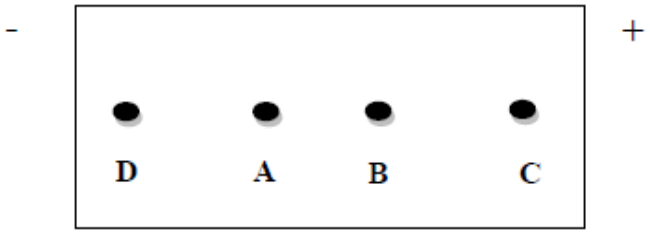
From the following options, choose the sequence(s) compatible with the data above:

a-Lys-Ala-Arg-Cys-Ser b-Ala-Arg-Cys-Ser-Lys c-Ala-Arg-Cys-Lys-Ser

d-Ser-Ala-Arg-Cys-Lys e-Ser-Lys-Ala-Arg-Cys f- Ala-Arg-Ser-Cys-Lys

Exercise 3: A mixture of four proteins : A, B, C, and D is provided.

Electrophoresis performed on this mixture at pH 7 yielded the following result:



The calculation of the pI (isoelectric point) for these four proteins yielded the following values:

pI = 5.1, pI = 6.2, pI = 8, pI = 8.5.

1) Indicate the pI value corresponding to each protein.

2) This mixture is applied to the top of an anion-exchange resin column and eluted with a buffer at pH 7. Among the four proteins, which ones will bind most strongly to the resin?

3) How should the pH be adjusted to facilitate the release (elution) of these proteins? Justify your answer.

4) Indicate the order in which the proteins will elute. Justify your answer.

Exercise 4: We want to determine the molecular weights of a protein.

1) Given that the protein contains 0.2% His and that the molecular weight (MW) of His is 155 Da. Calculate the minimum molecular weight of the protein.

2) Ultracentrifugation of the protein yielded a molecular weight of 390,000 Da. Determine the number of His molecules present in the composition of this peptide.